

高脂血症下における膵障害発現の病態に関する研究

渋谷 均 水間 公一

札幌医科大学外科学第1講座 (主任 早坂 晃 教授)

Studies on Etiology of Pancreatitis Induced by Hyperlipemia

Hitoshi SHIBUYA and Koichi MIZUMA

Department of Surgery (Section 1), Sapporo Medical College

(Chief: Prof. H. Hayasaka)

In order to investigate the etiology of pancreatitis induced by hyperlipemia, high concentrations of free fatty acid (FFA) fluid were injected into the main artery of the pancreas in rabbits and serum fatty acid levels, enzyme activities, mean arterial blood pressure and pancreatic tissue blood flow were measured. In addition, the pancreas was also studied histologically. Conclusions are summarized as follows:

- 1) A marked elevation of serum amylase activity and a slight elevation of serum lipase activity in the experimental group suggested induction of pancreatitis. However, no changes were found in trypsin-like activity.
- 2) A marked increase of serum FFA levels was found in the experimental group but no remarkable changes were found in serum TG levels.
- 3) Mean arterial blood pressure showed a gradual slight decrease in the course of the experiments. There was also a marked decrease in pancreatic tissue blood flow.
- 4) Histological findings varied somewhat from rabbit to rabbit. In most of the cases, the histology showed features of edematous pancreatitis. Marked pathological changes were found in the marginal regions of the parenchyma. Investigation revealed disruption of the cell membrane of acinar cells, detachment of individual cells, neutrophilic infiltration and, in some cases, hemorrhagic changes.

Thus, it is possible that under clinical conditions, a marked increase of serum FFA levels in patients may result in the initiation of pancreatitis.

(Received March 22, 1984 and accepted May 28, 1984)

Key words: Pancreatitis, Hyperlipemia, Amylase, Lipase, Pancreatic tissue blood flow

1 緒 言

急性膵炎患者の経過観察中にしばしば、高脂血症がみられることは周知の事実であり、その頻度は3~22%^{1,2)}、また53%³⁾にも及ぶとの報告もあるが、最近では32.5%にみられたと報告されている⁴⁾。

急性膵炎と高脂血症の因果関係に関する基礎的、臨床的研究は欧米において早くより行なわれてきているが、未だ明確な結論を得るに至っていない。

種々の動物を用いた膵炎発症実験において明らかな高脂血症が観察されている。従来、高脂血症は急性膵炎に続発したものであるとする研究者が多く、その原因として lipoprotein lipase (LPL) 活性の低下⁵⁾、膵ホルモン動態の変動^{6,7)}などが指摘されている。

一方、ある種の高脂血症患者(家族性高脂血症など)においては、高脂血症そのものが膵炎発症の原因となりうる事が臨床的に報告されている^{2,8,9)}。この原因としては、膵毛細血管中に増加した遊離脂肪酸とCaイオ

ンが結合することによる脾毛細血管壁の障害¹⁰⁾と、それに伴う脾組織自体の虚血性変化¹¹⁾が想定されている。

著者らは今回、高脂血症における高脂肪酸血症下の状態で、はたして脾障害が惹起されるか否かを知る目的で家兎を用い、その脾血管中に高濃度の脂肪酸を持続注入することにより、高脂肪酸血症を発現させ、その際の血清中の脂質量、酵素活性、平均動脈圧、脾組織血流量、脾の組織学的変化などを検討し、脾障害発現の病態を観察したので報告する。

2 実験材料および実験方法

2.1 実験動物

2.5～3 kg の成熟雌雄家兎 87 羽を使用し、少なくとも 12 時間以上絶食とした後、実験に供した。

2.2 実験方法

2.2.1 実験モデルの作成

家兎はペントバルビタールナトリウム(Nembutal®) 25 mg/kg の静脈麻酔下で開腹した。家兎には十二指腸側と腹腔動脈より後腹膜、脾動脈側にかけての脾が存在するが、今回の動脈内注入実験では後者の脾の本幹動脈である腹腔動脈を使用し、その動脈内にカニレーションした。注入液をより効果的に脾に作用させるため、胃側へ流入する主な分枝(右胃動脈、左胃動脈、短胃動脈)は結紮したが、肝の血流障害をさけるため固有肝動脈には操作を加えなかった (Fig. 1)。

予備実験として、家兎を用い前述と全く同様の方法において、動脈内注入液が正しく脾組織に作用するかということ、またその作用範囲を知る目的で腹腔動脈

より色素(メチレンブルー) 5 ml を注入した。

脾動脈より後腹膜に至る脾組織は色素により染色されることが確認された (Fig. 2)。

2.2.2 腹腔動脈内注入液の作成

対照群の注入液はアルブミン (Albumin, Bovine, Fraction V, 片山化学) 1.6 g (家兎の血清アルブミン値は 3.2～3.6 g/dl による) を生理食塩水 50 ml に溶解し、作成した。実験群の注入液はアルブミン 1.6 g, オレイン酸 (和光純薬) 0.8 ml (710 mg) に生理食塩水を加え 50 ml とし Sonifier (Branson Sonifier, Model W 185) を用い 40 watt, 10 分間にて分散し、作成した。

2.2.3 群 別

家兎を以下の如く 2 群に分けた。対照群: 開腹操作後、腹腔動脈内に前記方法にて作成したアルブミン加生理食塩水, 50 ml を動注用ポンプ (Sharp Mp-30) を用い, 0.8 ml/min, 60 分にて持続注入した群 (27 羽)。実験群: 前記方法にて作成した脂肪酸注入液 50 ml を対照群と同様に 0.8 ml/min, 60 分で持続注入した群 (60 羽)。

予備実験として、上記方法における動注時の動脈内遊離脂肪酸濃度を知る目的で、動注開始後 30 分に脾動脈より採血し、遊離脂肪酸濃度を測定した。脂肪酸動注群では平均 $2,011 \mu\text{Eq/l}$, アルブミン加生理食塩水動注群では平均 $497 \mu\text{Eq/l}$ であった (Table 1)。

2.2.4 血液の生化学的検索

2.2.4.1 試料の採取と保存

採血は実験操作前、後 60, 120, 180, 240, 300 分

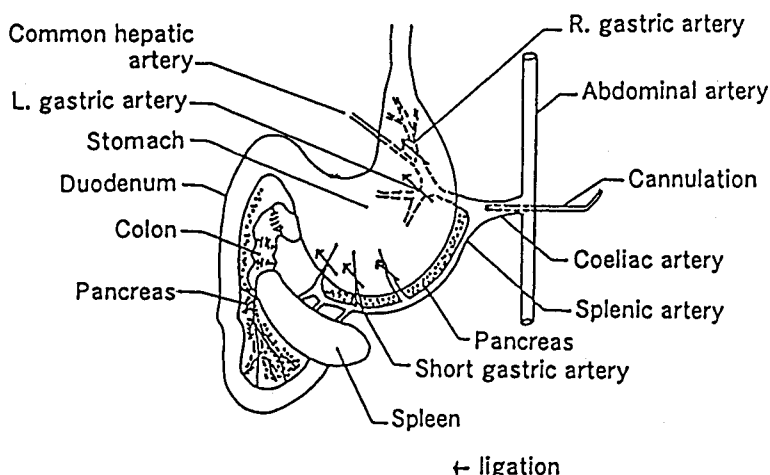


Fig. 1 Semischematic illustration of the pancreas and branches of coeliac artery in rabbit.

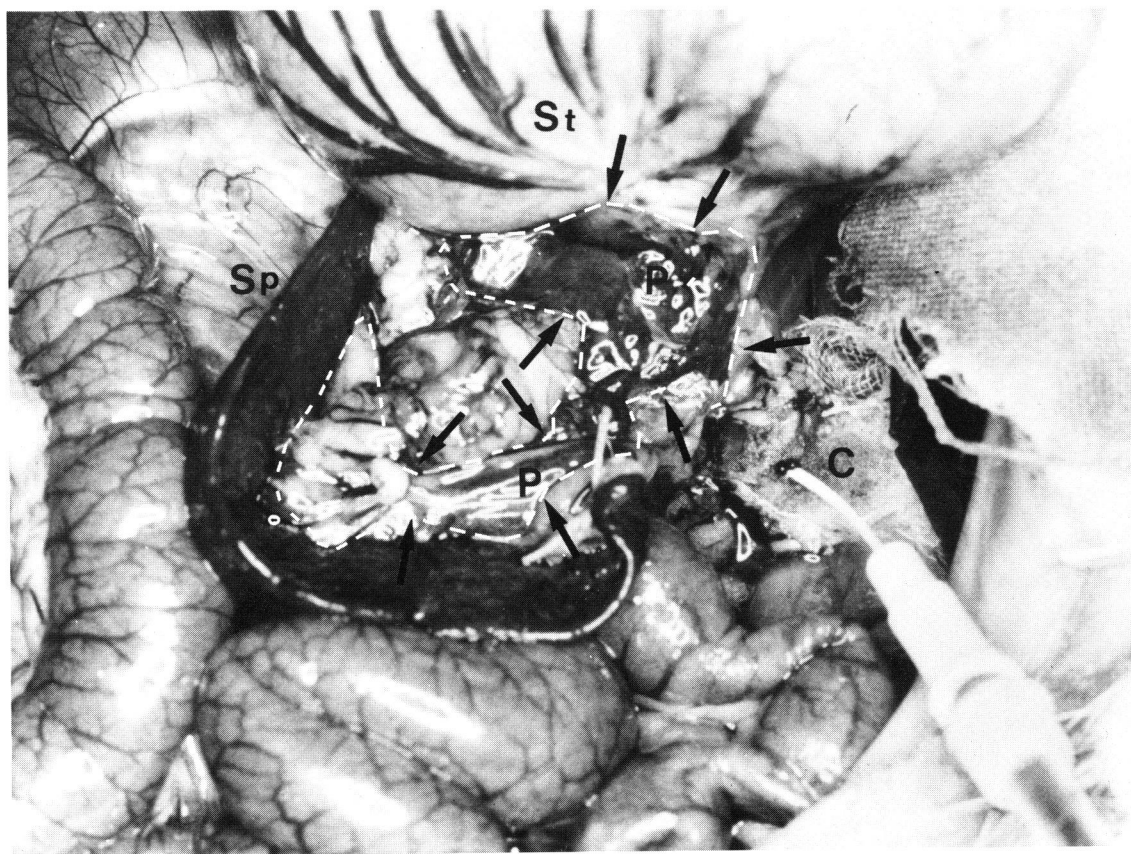


Fig. 2 C: coeliac artery Sp: spleen St: stomach P: pancreas
arrows: \longrightarrow ; locations of the pancreas stained with methylene-blue, $\times 2$

Table 1 Serum free fatty acid levels in coeliac artery
($\mu\text{Eq/l}$).

Control group (n=5)	Experimental group (n=6)
497 \pm 130	2011 \pm 363

Values are mean \pm S. D.

に大腿静脈および門脈より行ない、ただちに3,000 rpm15分間、4°Cで遠心後、血清を分離し、測定実施まで-80°Cで保存した。

2.2.4.2 血清 amylase 活性測定法

Caraway 法¹²⁾に従い分光光度計(島津 U-V 200)を用い、波長 660 nm にて測定した。

2.2.4.3 血清 lipase 活性測定法

Vogel and Zieve¹³⁾による比濁法により前項と同様の分光光度計を用い、波長 400 nm にて測定した。

2.2.4.4 血清 trypsin-like activity 測定法

Uete *et al.*¹⁴⁾の方法に従い BANA (α -Benzoyl-L

-arginine- β -naphthylamide: Sigma chemical) を基質とし、trypsin の amidase 作用によって遊離する β -naphthylamine を蛍光分光光度計(島津 R-F-510)を用い測定した(Fig. 3)。なお標準曲線の作成には β -naphthylamine (Soeul chemical) を使用し、回帰直線 $Y = 49.97 X + 34.94$ を得、X の値より β -naphthylamine 濃度を求めた(Fig. 4)。

2.2.4.5 血清遊離脂肪酸 (FFA) 測定法

Itaya-Ui 改良法¹⁵⁾に従い前項と同様の分光光度計を用い、波長 480 nm にて測定した。

2.2.4.6 血清トリグリセライド (TG) 測定法

アセチルアセトン法¹⁶⁾に従い前項と同様の分光光度計を用い、波長 410 nm にて測定した。

2.2.5 平均動脈圧の測定

大腿動脈内に挿入したポリエチレンチューブより圧トランスドューサー(GOULD-statham P-50)を介し、多用途監視記録装置(日本光電 PM-6)にて測定記録した。

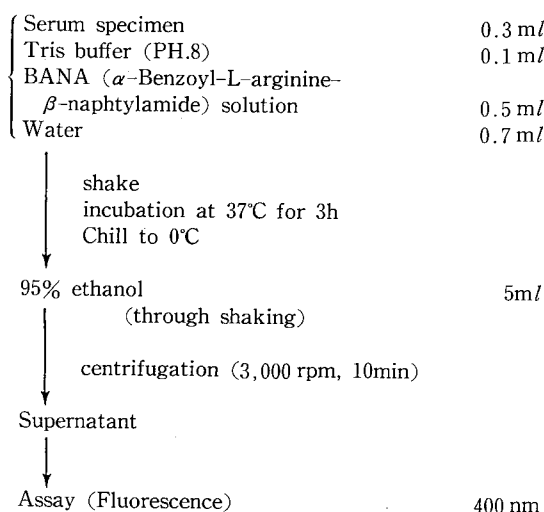


Fig. 3 Determination of trypsin-like activity in serum (μ g/ml of serum/h).

2.2.6 脾組織血流量の測定

ワイヤータイプの sensor (UHE-203, ユニークメディカル) を脾組織内に刺入, 固定し, 水素クリアランス法¹⁷⁾にて測定した。

予備実験として, 一般的な脾炎発症実験において実際, 脾の虚血性変化がみられるかを知る目的で Bawnik *et al.*¹⁸⁾の方法に準じ 10% タウロコール酸ナトリウム, trypsin 2,000 BAEE (benzoyl-L-arginine ethyl ester) 単位の生理食塩水溶解液, 0.3 ml を脾被膜下に注入し, 急性脾炎を発症させ, 平均動脈圧, 脾組織血流量の変動を経時的に観察した。

平均動脈圧は時間の経過とともに低下傾向を示し, 300 分値では前値に比較し 28% 低下した。脾組織血流

Table 2 Preliminary experiments.

	Mean arterial blood pressure (mmHg) (n=6)	Pancreatic blood flow (ml/min/100 g) (n=6)
Before	86 \pm 7	45 \pm 16
60	74 \pm 15	19 \pm 12
120	68 \pm 8	10 \pm 4
180	68 \pm 8	9 \pm 5
240	62 \pm 13	7 \pm 5
300 min	62 \pm 13	6 \pm 0

Values are mean \pm S. D.

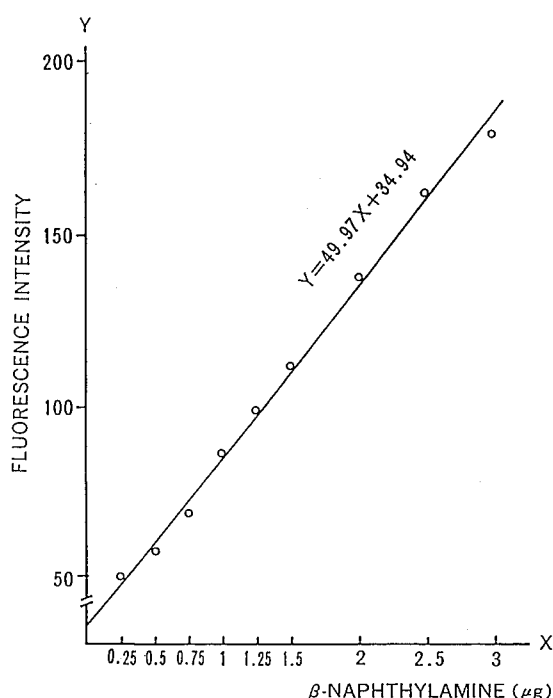


Fig. 4 Standard curve for assaying β -naphthylamine concentration.

量は 60 分値で前値に比較し, すでに 58% 低下を示し, 300 分値においては 87% 低下と, 著明な低下傾向がみられた (Table 2)。

なお, この予備実験における家兎の脾組織所見では著明な浮腫性脾炎の像に一部, 壊死性変化を伴う組織像がみられ, 脾炎の発症が確認されている。

2.2.7 病理学的検索

15 羽の家兎を実験終了後, 致死量のペントバルビタールナトリウムを静注し, 屠殺した後, 脾を摘出し, ただちに 10% ホルマリン溶液にて固定し, Haematoxylin and Eosin (H-E) 染色標本を作成し, 光顕レベルで観察した。

3 実験成績

3.1 血清 amylase 活性値の変動 (Table 3)

血清 amylase 値は実験群において, 末梢血, 門脈血ともに 120 分値より上昇傾向を示し, 末梢血では 120 分値より, また門脈血では 180 分値より対照群と比較して有意に上昇し, 実験終了時, 300 分値では末梢血で最高値 402 U/dl (前値の 65% 上昇), また門脈血では最高値 406 U/dl (前値の 62% 上昇) を示した。一方, 対照群においては末梢血, 門脈血ともに 60 分値において

Table 3 *Changes of serum amylase activity (U/dl).*

Serum group time	Peripheral blood serum		Portal blood serum	
	control group (n=11)	experimental group (n=29)	control group (n=11)	experimental group (n=29)
Before	254±59	262±66	268±69	250±69
60	213±53	260±92	208±51	226±75
120	206±49	308±173*	209±59	279±173
180	197±56	335±182**	200±50	321±194***
240	189±50	369±201***	202±49	340±215*
300 min	197±54	402±240***	209±37	406±244**

* Symbols show significant differences from control levels.

* P<0.025, ** P<0.01, *** P<0.005.

Values are mean±S. D.

Table 4 *Changes of serum lipase activity (U/l).*

Serum group time	Peripheral blood serum		Portal blood serum	
	control group (n=6)	experimental group (n=21)	control group (n=6)	experimental group (n=21)
Before	63±13	49±19	62±16	48±25
60	65±33	52±31	65±25	58±39
120	74±35	72±60	65±17	62±50
180	57±15	71±50	71±33	57±46
240	63±18	72±56	72±13	61±48
300 min	57±25	66±54	57±25	68±48

Values are mean±S. D.

前値に比較し、わずかながら低値を示した後は実験終了時、300分値まで大きな変動は認めなかった。なお、実験群、対照群において、末梢血、門脈血の両者間における数値の差異は認めていない。

3.2 血清 lipase 活性値の変動 (Table 4)

血清 lipase 値は実験群、対照群の末梢血、門脈血において前値に数値の差異が認められるが、有意差はない。実験群においては、経時的にわずかながら上昇傾向がみられ、末梢血における180分値、240分値、門脈血における300分値では前値に比較し、有意差が認められた (P<0.05)。しかしながら、対照群との比較では有意差を認めていない。一方、対照群においては、末梢血における120分値、門脈血における180分値、240分値において前値に比較し、軽度の上昇を認めるが、有意差はなく、他の測定値もおおよそ一定した

数値を示した。なお、実験群、対照群において、末梢血、門脈血の両者間に数値の差異は認めていない。

3.3 血清 trypsin-like activity 値の変動 (Table 5)

血清 trypsin-like activity 値は実験群において、上昇傾向は認められず、また一定の傾向を示さなかった。一方、対照群においては、各測定値は前値に比較し、むしろ低値を示すが、大きな変動はみられなかった。また実験群と対照群との比較において有意差は認めていない。

3.4 血清遊離脂肪酸 (FFA) 値の変動 (Table 6)

血清 FFA 値は実験群において、動注終了後よりただちに上昇傾向がみられ、120分値においては、末梢血、門脈血でそれぞれ最高値1,223 $\mu\text{Eq/l}$ (前値の156%上昇)、1,101 $\mu\text{Eq/l}$ (前値の80%上昇)を示し、その後わずかに低下するが、実験終了時でも高値のまま維持

されていた。また対照群との比較においても有意差を認めた。一方、対照群においても、前値に比較し、経時的に上昇傾向が認められたが、その変動はあまり大きくなかった。なお、実験群、対照群における末梢血、門脈血の両者間に数値の差異は認めていない。

3・5 血清トリグリセライド(TG)値の変動 (Table 7)

血清 TG 値は実験群、対照群の末梢血、門脈血において、実験経過中あまり変動はみられず、また両群間において有意差を認めなかった。なお、各群における末梢血、門脈血の両者間に数値の差異は認めていない。

3・6 平均動脈圧の変動 (Fig. 5)

平均動脈圧は実験群において、時間の経過とともに、わずかではあるが、低下傾向を認め、300 分値では前値に比較し、約 15% 低値を示した。しかしながら対照群との比較では有意差をみなかった。一方、対照群では

Table 5 Serum trypsin-like activity in peripheral blood serum ($\mu\text{g/ml}$ of serum/h).

group time	Control group (n=6)	Experimental group (n=20)
Before	0.87 \pm 0.36	0.87 \pm 0.28
60	0.69 \pm 0.17	0.65 \pm 0.21
120	0.74 \pm 0.10	0.66 \pm 0.14
180	0.88 \pm 0.23	0.80 \pm 0.21
240	0.77 \pm 0.14	0.72 \pm 0.32
300 min	0.77 \pm 0.06	0.78 \pm 0.26

Values are mean \pm S. D.

実験経過中、平均動脈圧の変動はほとんどみられず、一定の数値を示した。

Table 6 Changes of serum free fatty acid levels ($\mu\text{Eq/l}$).

Serum group time	Peripheral blood serum		Portal blood serum	
	control group (n=7)	experimental group (n=21)	control group (n=7)	experimental group (n=21)
Before	437 \pm 215	571 \pm 236	502 \pm 142	610 \pm 255
60	714 \pm 350	1045 \pm 637	683 \pm 211	1043 \pm 583
120	565 \pm 289	1223 \pm 641***	657 \pm 193	1101 \pm 596*
180	813 \pm 410	1046 \pm 538	606 \pm 223	982 \pm 561*
240	784 \pm 357	1045 \pm 484	578 \pm 169	897 \pm 420**
300 min	715 \pm 232	1022 \pm 528*	601 \pm 169	868 \pm 570

* Symbols show significant differences from control levels.

* P<0.05, ** P<0.025, *** P<0.01.

Values are mean \pm S. D.

Table 7 Changes of serum triglyceride levels (mg/dl).

Serum group time	Peripheral blood serum		Portal blood serum	
	control group (n=6)	experimental group (n=21)	control group (n=6)	experimental group (n=21)
Before	161 \pm 36	187 \pm 60	158 \pm 37	185 \pm 56
60	161 \pm 50	206 \pm 140	139 \pm 34	174 \pm 87
120	142 \pm 71	180 \pm 95	129 \pm 27	167 \pm 76
180	149 \pm 37	182 \pm 92	131 \pm 18	164 \pm 76
240	145 \pm 36	189 \pm 91	132 \pm 17	168 \pm 79
300 min	148 \pm 34	184 \pm 81	138 \pm 15	175 \pm 80

Values are mean \pm S. D.

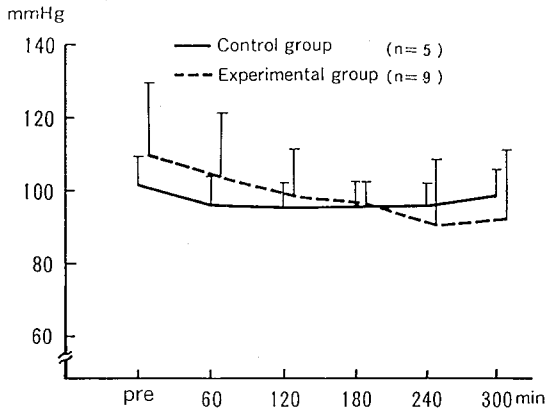


Fig. 5 Mean arterial blood pressure (mean±SD).

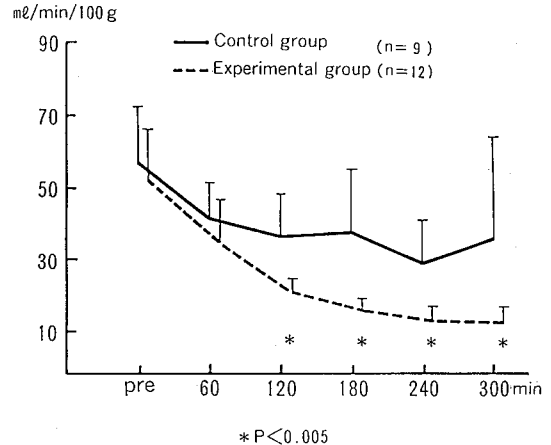


Fig. 6 Pancreatic tissue blood flow (mean±SD).

3.7 膵組織血流量の変動 (Fig. 6)

膵組織血流量は実験群において、動注終了後よりだちに低下傾向を認め、120 分値では前値に比べ 60% の低下、また実験終了時、300 分値では 75% の低下を認め、対照群との比較においても 120, 180, 240, 300 分値で有意差がみられた。一方、対照群においても動注終了時より低下を認めるが、進行性に低下することではなく、60 分値より 300 分値まで著明な変動は認めなかった。

3.8 膵組織の病理学的所見

実験家兎の膵組織所見は個体差もあり、少しずつ異なる組織像が認められた。15 例中 12 例では軽度の浮腫性膵炎、また浮腫性膵炎に出血性変化を伴う組織像が認められた。また他の 3 例では著明な浮腫性膵炎の組織像が認められた。

3.8.1.1 実験終了時の膵組織光顕所見：多数例にみられた組織像 (Fig. 7)

膵被膜と実質の間は浮腫性で炎症細胞浸潤が多数みられ、毛細管（リンパ管）の拡張が著しい。また一部の領域においては出血巣も認められる。個々の腺房間は浮腫性変化のためと思われる軽度の離開があるが、炎症細胞浸潤はほとんど認められない。腺房構造の破壊はなく、膵島も認められた。小膵管はやや拡張している (Fig. 7-a)。

3.8.1.2 膵実質辺縁部拡大像 (Fig. 7-b)

腺房細胞の固有な配列は失われ、細胞の大小不同が目立つとともに、核の pyknotic な変化、細胞膜の破壊、チモーゲン顆粒の減少、消失を認める。また個々の細胞間の離開および腺腔構造の消失も著しい。実質

外領域には出血による赤血球の集塊の中に好中球を多数認めた。

3.8.1.3 膵実質中心部拡大像 (Fig. 7-c)

辺縁部に比べ、腺房細胞で構成される固有な構造は保たれ、腺腔も認められる。個々の腺房細胞の極性は保たれ、腺腔側にはチモーゲン顆粒が多数存在する。しかし、全般的に腺房細胞は肥大傾向である。

3.8.2.1 実験終了時の膵組織光顕所見：少数例にみられた組織像 (Fig. 8)

膵腺房間はやや離開傾向を示し、そこに軽度の炎症細胞の浸潤を認める。膵実質細胞領域においては、細胞質の acidophily あるいは核の basophily を失っている細胞が多く、膵島域と腺房域の境界は不明である。なお、小膵管の拡張は目立たない (Fig. 8-a)。

3.8.2.2 膵実質 b の拡大像 (Fig. 8-b)

固有の腺腔形成構造は認められず、個々の細胞は萎縮し、極性が失われている。この傾向は実質周辺領域および、中心領域にび慢性に認められた。

3.8.2.3 膵実質 c の拡大像 (Fig. 8-c)

細胞膜を消失している細胞数が多く、細胞内容物が裸核周辺に散在している。膜構造がわずかに残っている細胞も認められるが、その細胞型はさまざまで、三角型、四角型、あるいは多辺型を示し、一定の傾向がない。本来の腺房細胞の形態的性格は失われ、組織構築としては、特異性をほとんど維持していない。

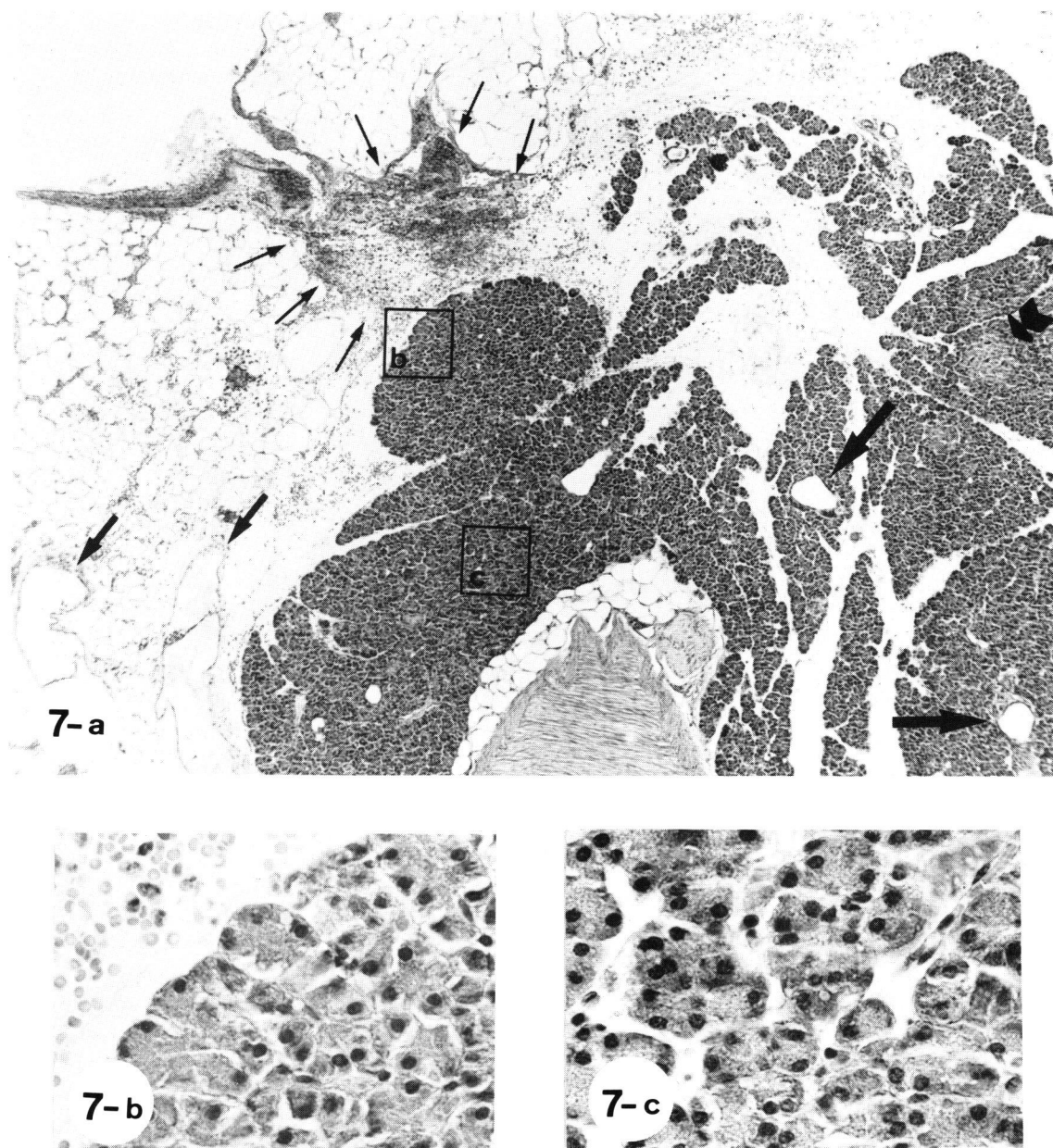


Fig. 7 Histological findings of the pancreas after intra-arterial infusion of FFA fluid, revealed in large number of cases.

7-a Note edematous changes and infiltration of inflammatory cells between pancreatic capsule and paranchyma. \rightarrow : dilatation of small lymphatic vessels.

\rightarrow : hemorrhagic regions. \Rightarrow : islet of Langerhans.

\Rightarrow : small pancreatic ducts. (H-E stain $\times 60$)

7-b Higher magnification of the margical area of the pancreatic parenchyma. Note changes of the original arrangements of acinar cells. (H-E stain $\times 450$)

7-c Higher magnification of the central area of the pancreatic parenchyma showing almost intact acinar structures. (H-E stain $\times 450$)

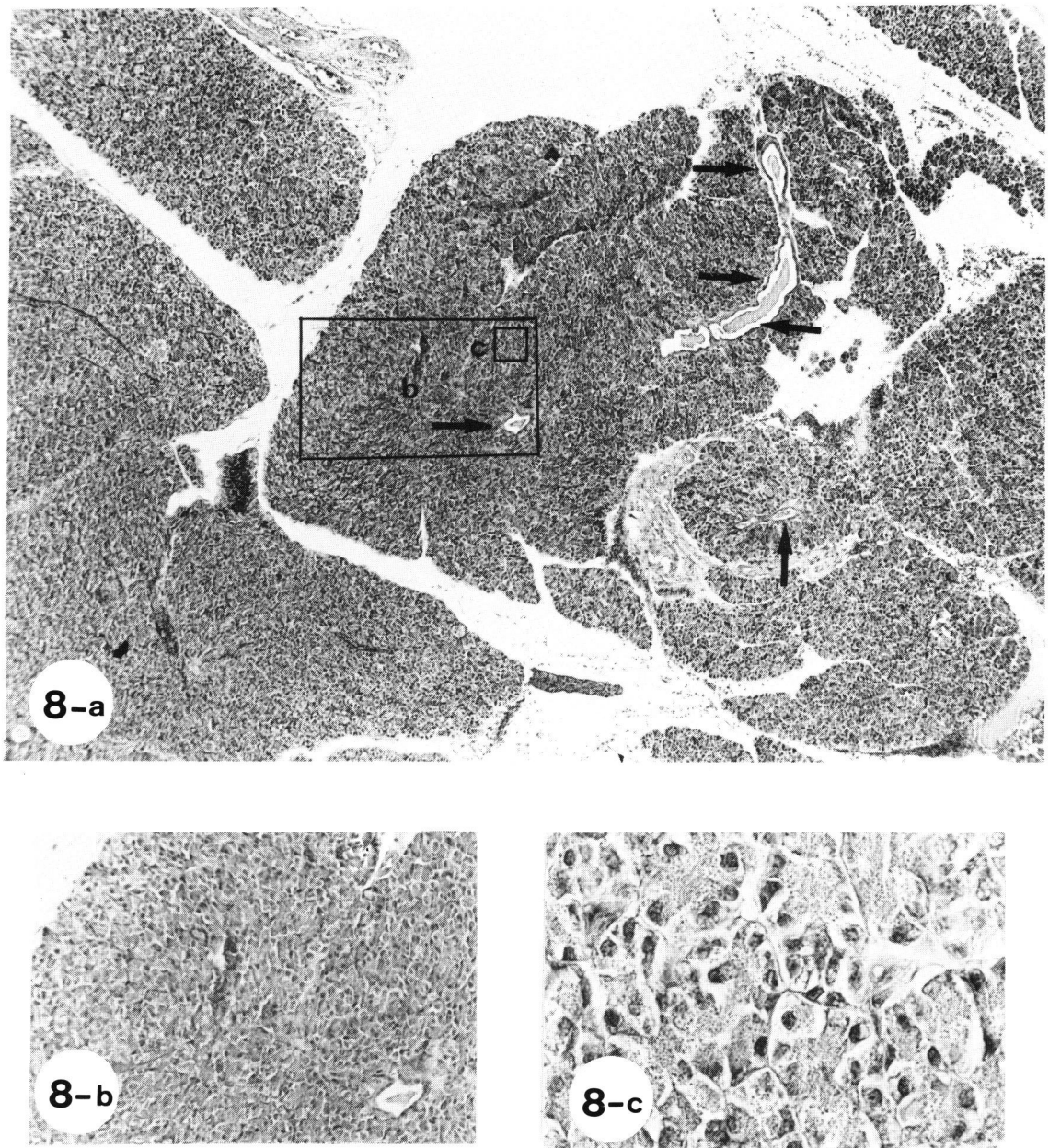


Fig. 8 Histological findings of the pancreas after intra-arterial infusion of FFA fluid, revealed in small number of cases.

8-a Massive degeneration, i. e., loss of acidophily in the cytoplasm and loss of basophily in the nuclei and slight infiltration of inflammatory cells were observed. Small pancreatic ducts (arrows: \rightarrow) were not so dilated. (H-E stain $\times 60$)

8-b High magnification of the pancreatic parenchyma. Note loss of the original structure of the acinar lumen. (H-E stain $\times 112$)

8-c Higher magnification of the pancreatic parenchyma showing destruction of the cell membrane of acinar cells. (H-E stain $\times 450$)

4 考 察

急性肺炎に高脂血症が合併することは、以前より報告されてきた^{8,19,20)}。しかしながら、この急性肺炎と高脂血症の因果関係については今もなお議論の余地のあるところである。現在まで考えられている説としては、1)高脂血症は急性肺炎に続発したものである、2)高脂血症そのものが急性肺炎の原因となる、3)両者は互いに独立しているが、偶然、同時に合併する、4)高脂血症は何らかの肺炎発症因子が存在する場において、肺炎が発症しやすい病態を作り出すという考えなどがある。

従来、1)の説を支持する研究者は多いが、一方、ある種の家族性高脂血症の患者にくり返し肺炎によると思われる腹痛発作がみられることなどにより、高脂血症そのものが肺炎を惹起する可能性も示唆されてきた。Havel¹⁰⁾は仮説として、血中に増加している chylomicron、もしくは、very low density lipoprotein (VLDL) の TG が膵 lipase が多く分布する膵毛細血管中で水解され、多量の FFA が放出され、Ca イオンと結合することにより毛細血管壁を障害し、微小血栓を生じさせ、局所的膵壊死を発生させることが引き金となり、急性肺炎が発症、進展すると述べた。また Havel の仮説に加え、FFA による直接的な膵腺房細胞への toxic な作用の可能性を示唆する研究者もおり²¹⁾、これらの考え方により高脂血症下の肺炎発症機転が説明されている。

一方、臨床的に高脂血症を呈する疾患のうちでも肺炎発症との関係でしばしば、論議されてきたものに、家族性高脂血症がある。家族性高脂血症は I 型より V 型まで分類されるが、これらのうちでも chylomicron の増加がみられる I 型、chylomicron と VLDL の増加がみられる V 型の患者にくり返し肺炎の発作がみられ、低脂肪食により症状緩解が得られたと報告されている^{8,9,22,23)}。

今回、著者らはこれらの報告に着目し、実験を行なった。実際、犬の膵灌流による Saharia *et al.*²⁴⁾ の実験では、オレイン酸を含む灌流液により、膵障害の発現を報告したが、生体においては灌流膵に比べ、肝における代謝経路の存在、また血中に存在する酵素阻害物質の影響などがあり、ただちに生体内の現象と比較出来ないと考えられる。

一般に血清 amylase 値、血清 lipase 値は急性肺炎の初期においては、病勢をよく反映するといわれており、肺炎発症初期においては上昇率もほぼ同程度とい

われているが、一方、症例によってはいずれか一方のみ上昇している例もみられるとの報告もある²⁵⁾。今回の動物実験においては、血清 amylase 値の方が血清 lipase 値に比較し、より敏感に膵障害の程度を反映していると思われた。実際、実験群の 60 分値では、あまり変動はみられないが、120 分値より次第に上昇傾向がみられ、対照群との比較でも有意差を認めた。このことは膵腺房細胞の破壊による酵素の逸脱によるものと理解され、膵障害の発症を想定させたが、他の肺炎発症実験モデルにみられるような血清 amylase 値の急激な上昇は認めなかった。これはおそらく自家胆汁、trypsin、タウロコール酸ナトリウム、エンドトキシンなどを膵管内に注入し、肺炎発症をみる実験モデルに比較し、脂肪酸の膵組織への作用がそれほど激しくなかったためと考えられた。一方、対照群においては、実験開始後 60 分値より前値に比較し、むしろ低値を認めることについては、注入液 50ml の影響により血清が希釈されることが原因と思われた。血清 lipase 活性値は実験群で軽度の上昇をみたが、対照群との比較においては有意差をみなかった。この原因としては酵素の血中移行への経路の違いも関与しているものと思われる。つまり、amylase は静脈性、リンパ行性、腹膜性の経路により血中に移行する²⁶⁾が、今回のように経過観察の短い実験では前二者による血中移行が考えられるのに対し、lipase は一旦、膵より十二指腸へ分泌された後、直接腸管、リンパ系を通じ血中に移行し²⁵⁾、肺炎発症時には amylase の上昇に遅れて上がり始める²⁷⁾との報告もあり、これらの影響も考えられた。

ヒトの膵疾患などにおける血清 trypsin 活性、血清 trypsin-inhibitor 活性の測定は、ここ数年来、Radioimmuno assay 法の確立により数多く報告されてきており、急性肺炎時にはこれらの酵素活性値の上昇が指摘されている²⁸⁻³³⁾。

今回の実験では trypsin-like activity 値を酵素法により検討した。実験群における trypsin-like activity 値に上昇はみられず、また一定の傾向も示さなかった。このことは本実験の膵障害が軽度であるという事実、また trypsin の血中移行経路の関連があるように思われた。つまり、trypsin は amylase と同様、膵腺房細胞の破壊により直接血中に放出されるものと、小腸へ放出された後、小腸粘膜の再吸収により血中に移行するもの³⁴⁾といわれているが、その他腹膜性経路、リンパ行性経路については未だ不明であり、短時間の実験においては、はたして trypsin 活性値がどの程度上昇するのかも明確でない。また膵液中、血中に存在する酵

素阻害物質の影響など、今後の検討が必要と思われた。

急性膵炎と血中脂質量(特に TG, FFA)の関係では、膵炎の結果として血中脂質量の増加がみられるという立場より多くの基礎的³⁵⁻³⁷⁾、臨床的報告^{38,39)}がなされてきた。この原因としては障害膵より放出される lipoprotein lipase (LPL) inhibitor の増加による LPL 活性の低下³⁾、また膵ホルモン動態の変動^{6,7)}が指摘されている。実際、膵炎時においては LPL 活性の低下がみられることにより、血中から脂質の除去が遅れることが考えられる。また膵ホルモン動態の変化として、血中インスリン (I) レベルの低下、血中グルカゴン (G) レベルの上昇がみられ、この I/G molar ratio の低下している状況下においては LPL 活性は低下しており、一方、脂肪組織内の Hormone sensitive lipase (HSL) 活性は上昇し、生体は lipolytic に傾き、末梢脂肪組織における FFA の血中への動員が増加する。また肝では FFA の取り込みが増加し、TG 合成が促進され、この結果として肝より VLDL の形で血中に放出される内因性脂肪が増加すると考えられ、これらのことにより急性膵炎時の高脂血症の発現は説明されている。

実験上では、血清 FFA 値は絶食により、また開腹操作などストレスに関係するカテコールアミン等、いわゆるストレスホルモンの lipolytic 作用により上昇することが知られている⁴⁰⁾。今回の実験においては、12 時間以上絶食にしていること、また開腹処置をしていることなどにより対照群でも上昇傾向がみられたものと推測される。一方、実験群においては動注終了後より上昇傾向がみられ、実験終了時でも高値のまま維持されていた。これは FFA を動注している事実に加え、対照群と同様、絶食、ストレスホルモンの関与、さらに血清 lipase 活性値に軽度の上昇がみられることにより、lipase 活性値が高いと考えられる膵組織等における中性脂肪の分解による FFA の血中への流出などが影響しているものと考えられた。

血液中で TG、及び他の脂質はタンパクと結合し、リポタンパクとして存在しているが、この中でも TG 含量の高いものに chylomicron, VLDL がある。食事摂取による小腸由来の外因性脂肪である chylomicron は半減期が 15~20 分であり⁴¹⁾、本実験では 12 時間の絶食時間よりこの影響はほとんどないと思われるので、血清 TG 値の変動は肝よりの VLDL 分泌量と血中における LPL 活性などの影響が考えられるが、本実験においては血清 TG 値の変動は認められなかった。実際、FFA を動注することにより肝では多量にそれを摂取すると考えられるが、それがただちに TG に合成され、そ

の後 VLDL として血中に放出されるかは疑問であり、また LPL inhibitor の関与は今回の実験では膵障害が軽度なためほとんどないのではないかと推測された。

平均動脈圧の変動をみる場合、今回の実験では脂肪酸を動注していることによる心、循環系への影響による変動と、膵障害発症時におけるカリクレイン、キニン系物質(ブラディキニン、ヒスタミン等)の変動による影響を考慮しなければならない。

高 FFA 血症下では、心筋への FFA 摂取の上昇、グルコース摂取の低下、血小板粘着性の亢進などにより不整脈、心筋梗塞の発現など、循環器系に障害を与えることが報告されている⁴⁰⁾。一方、膵炎発症時には活性 trypsin が血中に逸脱した後、血漿カリクレインの活性化、およびキニン系物質の遊離を引き起こすことにより末梢血管を拡張させ、平均動脈圧が低下することが報告されている。犬を用いた膵炎発症実験で Donaldson *et al.*⁴³⁾ は 60 分値で前値の 35% 低下、また Papp *et al.*⁴⁴⁾ は 24 時間後の測定で前値の 30% 低下を報告している。

今回、著者らの実験では予備実験群において 300 分値で前値に比較し、28% 下降を示したのに対し、本実験群では 300 分値で前値との比較で 15% の低下を示した。このことは膵障害発現方法が異なることによる膵障害の程度の差と考えられたが、今後カリクレイン、キニン系物質の検討が必要と思われた。

膵炎の発症、進展には膵の虚血性変化が重要な因子であると指摘されてきており⁴⁵⁾、虚血状態では腺房細胞の細胞膜の安定性が失われ、酵素に対する抵抗性が減弱すると報告されている⁴⁶⁾。また膵炎発症時においては trypsin など、タンパク分解酵素の間質への逸脱と血管透過性亢進による間質への浸出液の貯留がみられる。この際、虚血により血流が不十分でタンパク分解酵素を除外出来ない、trypsin は浸出液に作用し、血管毒性物質を生み出し血管障害、動静脈炎、血栓形成を促進し、膵炎が進展するとの報告もみられる⁴⁷⁾。

膵炎発症実験においては実際、膵組織血流量の変化を長時間にわたり測定、報告したものはほとんどみられず、また著者らの膵炎発症モデルと異なるため直接比較することは出来ないが、Donaldson *et al.*⁴³⁾ 嶋ら⁴⁸⁾ の膵炎発症実験では 60 分値で前値に比較し、47%、35~50% の膵組織血流量の低下を報告している。

今回、著者らの実験では予備実験群において 60 分値よりただちに著明な低下傾向を示し、また本実験群でも動注終了時より低下が認められ、60 分値で前値に比較し、33% の低下、実験終了時では最大 75% の低下を

示した。これらの事実は膵障害の程度と膵の虚血性変化の関連性を示すものと思われる。また平均動脈圧との関連では、循環動態が比較的良好に保たれているにもかかわらず、局所的には膵の血流障害が進展すると考えられた。

動物を用いた膵炎発症実験において膵の血流障害を改善する目的で dextran⁴³⁾、あるいは dextran に dopamine を併用する治療⁴⁸⁾が行なわれ、膵血流の改善がみられたとの報告もあり、今後の膵炎の治療として検討が待たれるところである。

急性膵炎の病理学的初期像、いわゆる浮腫性膵炎の時期では膵実質周囲に浮腫がみられ、膵被膜の伸展がみられる。この時期に患者は腹痛を訴えるが、この病態は可逆的でもあり、またこの時期には血清 amylase 活性値の上昇がみられる。さらにこの時期を経て出血性膵炎、壊死性膵炎に移行する⁴⁹⁾。一般に、浮腫性膵炎の初期では炎症は膵周囲より始まるが⁵⁰⁾、まれには中心部より始まることも報告されている⁵¹⁾。

今回の実験家兎における膵組織所見では、個体差もあり、個々の例で若干異なる組織像を呈したが、およそ浮腫性膵炎の病像を呈しており、その病変は主に膵実質辺縁部にみられることが多かったが、個体によっては膵実質中心部にまで、び慢性に炎症が及んでいる像も認められた。また一部には出血巣も認められ、浮腫性膵炎に加え、一部出血性膵炎の像を呈する例もみられた。これらの事実は今回の実験方法において、脂肪酸の膵障害作用が主に膵実質辺縁部に始まり、個体によっては炎症がび慢性に中心部にまで及んだと解釈でき、浮腫性膵炎の発症過程とほぼ一致する所見が得られた。

一方、膵においては虚血性変化が進展すると、膵実質辺縁部は血流を受けにくいため、早くより変性がみられてくるとされており⁵⁰⁾、今回の実験における著明な膵組織血流量の低下を考慮すると、膵の組織学的変化と膵の虚血性変化の相関が示唆されるものと思われた。

今回の実験結果により、高脂肪酸血症の状況下において膵障害が発症しうる可能性を示唆することが出来たが、急性膵炎と高脂肪酸血症の因果関係では未だ不明な点が多い。両者が合併するという立場ではアルコール飲用との関係がある。アルコール摂取時の高脂肪酸血症発症の原因としては、(1)肝において脂肪酸のエステル化が亢進することにより TG 合成、VLDL の型で血中に放出される内因性脂肪が増加する¹⁰⁾、(2) LPL 活性がしばしば低下する⁵⁾、(3)膵ホルモン動態の変化として I/G molar ratio が低下する^{52,53)}、などにより説明されてい

る。また同時にアルコールが膵炎の原因となることは古くは Schapiro *et al.*⁵⁴⁾ の obstruction and hypersecretion theory に始まったが、現在ではむしろ Sarles⁵⁵⁾、Bordalo *et al.*⁵⁶⁾ の small duct theory、すなわち、アルコールにより膵液中のタンパク質濃度が上昇し、その沈降によりタンパク栓が形成され、導管の閉塞、間質の萎縮などをきたし膵炎が発症するという説が有力視されている。これらの考え方などによりアルコール摂取時の高脂肪酸血症発現と急性膵炎発症が合併すると説明されている。一方、アルコール飲用者には脂質代謝異常がみられることが多いという立場より両者が合併すると報告している研究者もいる^{1,12,57)}。

高脂肪酸血症は膵炎が発症しやすい病態を作り出すという考えにおいては、その原因として、高脂肪酸血症の状態下では膵腺房細胞の細胞膜の構造の安定性が失われやすいとの報告があり⁵⁸⁾、また臨床的にはアルコール摂取、胆道系疾患など膵炎が発症しやすい状態下において高脂肪酸血症が存在すると、容易に膵炎が発症すると報告されている⁴⁾。

このように膵炎発症機転も未だ明確でなく、また高脂肪酸血症との関係でも一定の見解に達していないが、今回の著者らの実験では高脂肪酸血症、特に高脂肪酸血症下において、生体膵に膵障害が発症することが明らかになった。またその発症、進展過程においては膵組織の進行性の血流障害が重要な因子であること、さらに平均動脈圧の著明な低下が認められなくても局所的には膵の虚血性変化が進展することが考えられた。組織学的には膵実質辺縁部より中心部に及ぶ変性像が認められ、膵の虚血性変化による変性所見と一致するものと思われた。

5 結 語

著者らは高脂肪酸血症が生体膵に何らかの障害を惹起するか否かを知るために、家兎膵の支配動脈内に高濃度の脂肪酸を持続注入し、高脂肪酸血症に類似する高脂肪酸血症を作成し、その際の血清脂質量、酵素活性値、平均動脈圧、膵組織血流量、膵組織所見などを検討し、以下の結論を得た。

(1) 血清 amylase 活性値は実験群において有意に上昇傾向を認め、また血清 lipase 活性値も軽度ではあるが、上昇傾向が認められた。このことは膵障害の発症を意味するものと考えられるが、血清 trypsin-like activity 値に変動は認められなかった。

(2) 血清 FFA 値は実験群で著明な上昇を認めたが、血清 TG 値に変動はみられなかった。

(3) 平均動脈圧は実験群で軽度の低下傾向を認めた。また膵組織血流量は実験群で著明な低下傾向を認め、膵の虚血性変化を示唆した。

(4) 膵病理組織所見では個体差による病像の違いがみられたが、多くは浮腫性膵炎の組織像を認め、また一部には出血巣も認めた。病変は主に膵実質辺縁部にみられることが多かったが、少数例では実質中心部にまで、び慢性に炎症がみられる例もあった。

以上の結果より、高脂肪酸血症下において膵障害が発症することが確かめられた。またその発症、進展過程においては膵組織の進行性の血流障害が重要な因子であると考えられた。

臨床的には血中 FFA 値が著増している高脂血症の患者では、高脂血症それ自体が膵炎の原因となりうると想定される。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った札幌医科大学外科学第一講座、早坂 晃教授ならびに御校閲をいただいた同生化学第二講座、坂上利夫教授に感謝いたします。また病理組織所見で御指導いただいた同病理学第二講座、水無瀬昂講師、同外科学第一講座、平田公一博士に謝意を表します。

なお本論文の要旨は昭和 58 年 7 月、第 20 回日本外科代謝栄養学会、昭和 59 年 7 月、第 24 回日本消化器外科学会総会にて発表した。

文 献

- Greenberger, N. J., Hatch, F. T., Drummery, G. D. and Isselbacher, K. J.: Pancreatitis and hyperlipemia: A study of serum lipid alteration in 25 patients with acute pancreatitis. *Medicine* **45**, 161-174 (1966).
- Farmer, R. G., Winkelman, E. I., Brown, H. B. and Lewis, L. A.: Hyperlipoproteinemia and pancreatitis. *Am. J. Med.* **54**, 161-165 (1973).
- Wang, C., Adlersbery, D. and Feldman, E. B.: Serum lipids in acute pancreatitis. *Gastroenterology* **36**, 832-840 (1959).
- Buch, A., Buch, J., Carlsen, A. and Schmidt, A.: Hyperlipidemia and pancreatitis. *World J. Surg.* **4**, 307-314 (1980).
- Kessler, J. I., Finkel, M., Ho, P. P. and Janowitz, H. D.: Lipoprotein lipase inhibition in rabbits with experimental pancreatitis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **110**, 24-26 (1962).
- 水間公一, 戸塚守夫: 血清脂質に対する膵ホルモンの作用に関する研究: I. 実験膵炎における血清脂質の変動—とくに膵ホルモンの関与について— 札幌医誌 **48**, 594-607 (1979).
- 水間公一, 戸塚守夫: 血清脂質に対する膵ホルモンの作用に関する研究: II, 膵膵出ラットにおける血清脂質—とくに膵ホルモン投与の効果について— 札幌医誌 **48**, 608-615 (1979).
- Klastin, G. and Gordon, M.: Relationship between relapsing pancreatitis and essential hyperlipemia. *Am. J. Med.* **12**, 3-23 (1952).
- Brunzell, J. D. and Schrott, H. G.: The interaction of familial and secondary causes of hypertriglyceridemia: Role in pancreatitis. *Trans. Assoc. Am. Physic.* **86**, 245-254 (1973).
- Havel, R. J.: Pathogenesis, differentiation and management of hypertriglyceridemia. *Adv. Int. Med.* **15**, 117-154 (1969).
- Broe, P. J., Zuidema, G. D. and Cameron, J. L.: The role of ischemia in acute pancreatitis: Studies with an isolated perfused canine pancreas. *Surgery* **91**, 377-382 (1982).
- Caraway, W. T.: A stable starch substrate for the determination of amylase in serum and other body fluids. *Am. J. Clin. Pathol.* **32**, 97-99 (1959).
- Vogel, W. C. and Zieve, L.: A rapid and sensitive turbidimetric method for serum lipase based upon differences between the lipases of normal and pancreatitis serum. *Clin. Chem.* **9**, 168-181 (1963).
- Uete, T., Asahara, M. and Tsuchikura, H.: A fluorometric determination of trypsin-like amylase activity and activity of trypsin inhibitors in serum. *Clin. Chem.* **16**, 322-330 (1970).
- 久城英人, 高野圭似, 曾山浩吉, 福井 巖: 血清遊離脂肪酸比色定量法に関する検討(第7報)—Itaya-Ui 改良法について— 臨床病理 **18**, 833-837 (1970).
- 松宮和人, 荒尾雅代, 中村雅一, 置塩達郎, 大森清彦: Acetylacetone 法による血清 Triglycerides の定量. 臨床病理 **18**, 383-386 (1970).
- Aukland, K., Bower, B. F. and Berliner, M. W.: Measurement of local blood flow with hydrogen gas. *Circ. Res.* **14**, 164-187 (1964).
- Bawnik, J. B., Orda, R. and Wiznitzer, T.: Acute necrotizing pancreatitis: An experimental model. *Dig. Dis.* **19**, 1143-1147 (1974).
- Poulsen, H. M.: Familial lipemia; a new form of lipidosis showing increase in neutral fats combined with attacks of acute pancreatitis. *Acta Med. Scand.* **138**, 413-420 (1950).
- Howard, J. M., Ehrlich, E., Spitzer, J. J. and Singh, L. M.: Hyperlipemia in patients with acute pancreatitis. *Ann. Surg.* **160**, 210-214 (1964).
- Cameron, J. L., Capuzzi, D. M., Zuidema, G. D.

- and Margolis, S.: Acute pancreatitis with hyperlipemia. *Ann. Surg.* **177**, 483-489 (1973).
22. Cameron, J. L., Capuzzi, D. M., Zuidema, G. D. and Margolis, S.: Acute pancreatitis with hyperlipemia. *Am. J. Med.* **56**, 482-487 (1974).
23. Welch, C. E., Radovsky, S. S., Proger, S. P., McDonough, J. F. and Vandam, L. D.: Pancreatitis and hyperlipemia. *N. Engl. J. Med.* **289**, 586-587 (1973).
24. Saharia, P., Margolis, S., Zuidema, G. D. and Cameron, J. L.: Acute pancreatitis with hyperlipemia: Studies with an isolated perfused canine pancreas. *Surgery* **82**, 60-67 (1977).
25. 阿部 裕, 七里元亮, 菊地幹雄: リパーゼ. 消化器外科 **3**, 1125-1131 (1980).
26. Howard, J. M., Smith, A. K. and Peters, J. J.: Acute pancreatitis: pathways of enzymes into the blood stream. *Surgery* **26**, 161-166 (1949).
27. Song, H., Tietz, N. W. and Tan, C.: Usefulness of serum lipase, esterase, and amylase estimation in the diagnosis of pancreatitis—a comparison. *Clin. Chem.* **16**, 264-268 (1970).
28. Elias, T., Redshaw, M. and Wood, T.: Diagnostic importance of changes in circulating concentrations of immunoreactive trypsin. *Lancet* **2**, 66-68 (1977).
29. Atrigas, J. M. G., Garcia, M. E., Faure, M. R. A. and Gimeno, A. M. B.: Serum trypsin levels in acute pancreatic and non-pancreatic abdominal conditions. *Postgrad. Med. J.* **57**, 219-222 (1981).
30. 高杉純好: 急性膵炎における血中蛋白分解酵素とインヒビターの動態に関する研究: 第1報: 急性膵炎におけるKallikrein-kinin系と α -2-macroglobulinの動態に関する研究. 広島医誌 **29**, 721-738 (1981).
31. 建部高明: トリプシン・インヒビター. 胆と膵 **3**, 839-845 (1982).
32. 小川道雄, 北原健志, 岩木研次郎, 藤本憲一, 田中重則, 村田厚夫, 高塚雄一, 神前五郎: 血中膵酵素および膵由来インヒビター量測定 (RIA法) による急性膵炎の診断. 消化器外科 **3**, 2159-2164 (1980).
33. 小川道雄: 膵臓のトリプシン・インヒビター. 胆と膵 **3**, 847-856 (1982).
34. Bakaar, G. L., Laving, G. S. and summerfield, J. A.: Origin of circulating serum immunoreactive trypsin in man. *Dig. Dis. Sci.* **27**, 143-148 (1982).
35. Wang, G., Strauss, L. and Adlersberg, D.: Experimental pancreatitis and plasma lipids. *Gastroenterology* **35**, 465-472 (1958).
36. Stackhouse, K. L., Glass, D. D. and Zimmermann, B.: Relationships of lipoprotein lipase and hyperlipemia in pancreatitis. *Surg. Forum* **17**, 343-344 (1966).
37. Zieve, L.: Relationship between acute pancreatitis and hyperlipemia. *Med. Clin. N. Am.* **52**, 1493-1501 (1968).
38. Kessler, J. I., Kniffen, J. C. and Janowitz, H. D.: Lipoprotein lipase inhibition in the hyperlipemia of acute alcoholic pancreatitis. *N. Engl. J. Med.* **269**, 943-948 (1963).
39. Kessler, J. I., Miller, M., Barza, D. and Mishkin, S.: Hyperlipemia in acute pancreatitis. *Am. J. Med.* **42**, 968-976 (1967).
40. 福井 巖, 久城英人, 高野圭似: 遊離脂肪酸(FFA)およびその分画. 日本臨床 **40**(秋季臨時増刊号), 277-281 (1982).
41. Havel, R. J. and Fredrickson, D. S.: The metabolism of chryomicra. I. The removal of palmitic acid-1-C¹⁴ labeled chryomicra from dog plasma. *J. Clin. Invest.* **35**, 1025-1032 (1956).
42. 宮坂京子, 岡田 弘, 林 正孝, 久山 泰, 石川義之, 岡本真郎, 桃井宏直: 急性膵炎時の膵液中カリクレインの動態. 医学のあゆみ **113**, 899-901 (1980).
43. Donaldson, L. A., Williams, R. W. and Schenk, W. G.: Experimental pancreatitis: Effects of plasma and dextran on pancreatic blood flow. *Surgery* **84**, 313-321 (1978).
44. Papp, M., Makara, G. B., Hajtman, B. H. and Csaki, L.: A quantitative study of pancreatic blood flow in experimental pancreatitis. *Gastroenterology* **51**, 524-528 (1966).
45. Pfeffer, R. B., Lazzarini-Robertson, A., Safadi, D., Mixter, G., Secoy, C. F. and Hinton, J. W.: Gradations of pancreatitis, edematous, through hemorrhagic experimentally produced by controlled injection of microspheres into blood vessels in dogs. *Surgery* **51**, 764-769 (1962).
46. Popper, H. L., Hecheles, H. and Russell, K. C.: Transition of pancreatic edema into pancreatic necrosis. *Surg. Gynecol. Obstet.* **87**, 79-82 (1948).
47. Anderson, M. C., Schoenfeld, F. B., Lams, W. B. and Suwa, M.: Circulatory changes in acute pancreatitis. *Surg. Clin. N. Amer.* **47**, 127-140 (1967).
48. 嶋 廣一, 鈴木 尚, 戸部隆吉: 急性膵炎—膵血流変動. 胆と膵 **4**, 1333-1338 (1983).
49. Beker, V.: Pathological anatomy and pathogenesis of acute pancreatitis. *World J. Surg.* **5**, 303-309 (1981).
50. Feiner, H.: Pancreatitis after cardiac surgery: A morphologic study. *Am. J. Surg.* **131**, 684-688 (1976).
51. Sarles, H.: Invited Commentary. *Word J. Surg.*

- 5, 311-313 (1981).
52. Tiengo, A., Fedele, D., Frasson, P., Muggeo, M. and Crepaldi, G.: Ethanol effect on glucagon in the pig. *Horm. Metab. Res.* **6**, 245-246 (1974).
53. 藤樹敏雄, 竹内 正: アルコールの膵におよぼす障害作用. *胆と膵* **2**, 857-865 (1981).
54. Schapiro, H., Wruble, L. D. and Britt, L. G.: The possible mechanism of alcohol in the production of acute pancreatitis. *Surgery* **60**, 1108-1111 (1966).
55. Sarles, H.: Chronic calcifying pancreatitis - chronic alcoholic pancreatitis. *Gastroenterology* **66**, 604-616 (1974).
56. Bordaro, O., Noronho, M., Lamy, J. and Dreiling, D. A.: Standard and augmented secretin testing in chronic pancreatic alcoholic disease. *Am. J. Gastroenterol.* **64**, 125-132 (1975).
57. Cameron, J. L., Zuidema, G. D. and Margolis, S.: A pathogenesis for alcoholic pancreatitis. *Surgery* **77**, 754-763 (1975).
58. Haig, T. H. B. and Saskatchewan, S.: Experimental pancreatitis intensified by a high fat diet. *Surg. Gynecol. Obstet.* **131**, 914-918 (1970).

別刷請求先: (〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目
札幌医科大学外科学第1講座 渋谷 均
水間公一